

(19)



JAPANESE PATENT OFFICE

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: **2001046051 A**(43) Date of publication of application: **20.02.01**

(51) Int. Cl.

C12N 1/12
A01G 33/00
// A61K 31/185
A61P 7/02
C12P 13/00
(C12P 13/00 , C12R 1:89)

(21) Application number: **11222470**(22) Date of filing: **05.08.99**(71) Applicant: **MITSUBISHI HEAVY IND LTD**

(72) Inventor: **HIRAYAMA SHIN**
UEDA RYOHEI

(54) **METHOD AND APPARATUS FOR PRODUCING**
D-CYSTEINOLIC ACID

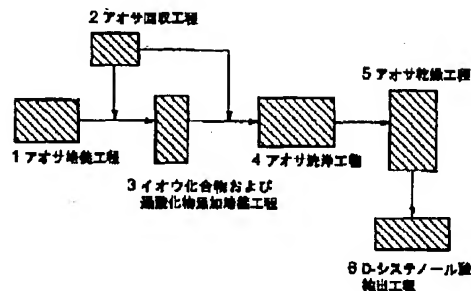
provided.

COPYRIGHT: (C)2001,JPO

(57) Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a method for efficiently supplying a large amount of D-cysteinolic acid, and further to provide an apparatus therefor.

SOLUTION: This method for producing D-cysteinolic acid comprises (1) a step for culturing sea lettuce containing the D-cysteinolic acid in the first culturing vessel opened at the upper part while exchanging a culture solution in the culturing vessel with seawater in the exterior of the culturing vessel, and bubbling the solution in the culturing vessel with carbon dioxide gas, (2) a step for further culturing the cultured and collected sea lettuce in the second culturing vessel while adding a sulfur compound and/or a peroxide to increase the content of the D-cysteinolic acid in the sea lettuce, (3) a step for drying the cultured collected and washed sea lettuce under a shade condition, and (4) a step for extracting the objective D-cysteinolic acid from the dried sea lettuce with an organic solvent or hot water, optionally purifying the extracted solution by an ion-exchange resin, and crystallizing the D-cysteinolic acid in the coexistence of ethanol or methanol. The apparatus therefor is also



(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2001-46051

(P2001-46051A)

(43)公開日 平成13年2月20日(2001.2.20)

(51)Int.Cl.⁷

識別記号

F I

テームト*(参考)

C 1 2 N 1/12

C 1 2 N 1/12

A 2 B 0 2 6

A 0 1 G 33/00

A 0 1 G 33/00

4 B 0 6 4

// A 6.1 K 31/185

A 6.1 K 31/185

4 B 0 6 5

A 6.1 P 7/02

A 6.1 P 7/02

4 C 2 0 6

C 1 2 P 13/00

C 1 2 P 13/00

審査請求 未請求 請求項の数7 OL (全 8 頁) 最終頁に続く

(21)出願番号

特願平11-222470

(22)出願日

平成11年8月5日(1999.8.5)

(71)出願人 000006208

三菱重工業株式会社

東京都千代田区丸の内二丁目5番1号

(72)発明者 平山 伸

神奈川県横浜市金沢区幸浦一丁目8番地1

三菱重工業株式会社基盤技術研究所内

(72)発明者 植田 良平

神奈川県横浜市金沢区幸浦一丁目8番地1

三菱重工業株式会社基盤技術研究所内

(74)代理人 100058479

弁理士 鈴江 武彦 (外4名)

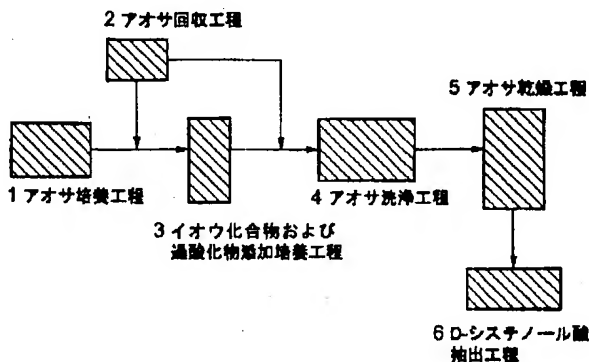
最終頁に続く

(54)【発明の名称】 D-システノール酸の製造方法および装置

(57)【要約】

【課題】 D-システノール酸を大量に効率的に供給する方法、およびそのための装置を提供すること。

【解決手段】 (1)上部を開口した第一の培養槽内で、培養槽内の培養液と培養槽外の海水を交換し、培養槽内に炭酸ガスをバブリングしながらD-システノール酸を含有するアオサの培養を行い、(2)前記培養後、回収したアオサにイオウ化合物および/または過酸化物を添加しながら、第二の培養槽内で培養を行うことにより、アオサ中のD-システノール酸含量を増大させ、(3)前記培養後、回収、洗浄したアオサを遮光した環境下で乾燥させ、(4)前記乾燥アオサからD-システノール酸を有機溶媒または熱水で抽出し、必要に応じて、該抽出液をイオン交換樹脂により精製し、エタノールまたはメタノール共存下で結晶化することを特徴とするD-システノール酸の製造方法およびその装置。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 上部を開口した第一の培養槽内で、前記培養槽内に窒素、リンを含有する海水を供給し、且つ前記培養槽内に炭酸ガスをバブリングしながら、D-システノール酸を含有するアオサを培養する工程と、前記アオサからD-システノール酸を有機溶媒または熱水で抽出する工程とを具備するD-システノール酸の製造方法。

【請求項2】 請求項1記載の培養工程で培養した後、前記アオサを回収する工程と、回収した前記アオサにイオウ化合物および/または過酸化物を添加しながら、第二の培養槽内で培養することにより、前記アオサ中のD-システノール酸含量を増大させるように培養する工程と、前記アオサからD-システノール酸を有機溶媒または熱水で抽出する工程とを具備するD-システノール酸の製造方法。

【請求項3】 請求項1または2記載の培養方法で生産した前記アオサを回収した後、遮光した環境下で前記アオサを乾燥する工程と、前記アオサからD-システノール酸を有機溶媒または熱水で抽出する工程とを具備するD-システノール酸の製造方法。

【請求項4】 請求項1ないし3の何れか1項記載の製造方法により得られたD-システノール酸を、更にイオン交換樹脂による精製、およびエタノールまたはメタノール共存下で結晶化する工程を具備するD-システノール酸の製造方法。

【請求項5】 請求項1ないし4の何れか1項記載の製造方法であって、前記アオサが、不稔性アオサであるD-システノール酸の製造方法。

【請求項6】 D-システノール酸を含有するアオサを培養するための第一の培養装置であって、上部を開口した第一の培養槽と、前記培養槽内に窒素、リンを含有す

る海水を供給するための供給手段および攪拌手段と、前記培養槽内に炭酸ガスをバブリングするための通気手段とを具備する第一の培養装置と；前記第一の培養装置で培養した後、回収した前記アオサを培養する第二の培養装置であって、有孔壁を有しない第二の培養槽と、イオウ化合物および/または過酸化物を添加するための添加手段とを具備する第二の培養装置と；前記第一の培養装置または第二の培養装置で生産した前記アオサを回収した後、前記アオサを乾燥させる乾燥装置であって、直射日光を防御する構造を有し、通気のための開閉部を有する乾燥室と、加熱・除湿手段とを具備する乾燥装置と；前記第一の培養装置、前記第二の培養装置または前記乾燥装置のいずれか1記載の装置で処理された前記アオサからD-システノール酸を抽出するための装置であって、有機溶媒または熱水と攪拌する手段を具備する抽出装置とを具備したことを特徴とするD-システノール酸の製造装置。

【請求項7】 請求項6記載の製造装置であって、更に、前記抽出装置で得られた抽出液からD-システノール酸を精製するためのイオン交換樹脂による精製手段と、エタノールまたはメタノール共存下での結晶化手段とを具備したことを特徴とするD-システノール酸の製造装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

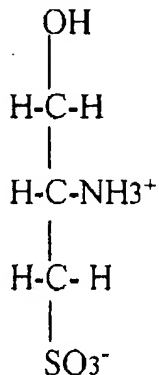
【発明の属する技術分野】本発明は、薬品、医薬品、健康食品、家畜や魚の飼料の添加剤として用いるD-システノール酸を生産する技術に関する。

【0002】

【従来の技術】D-システノール酸 ($C_9H_{19}NO_4S$: 分子量155) は、従来からイワシの中に微量に含まれることが知られている。

【0003】

【化1】



分子量: 155

D-システノール酸の構造式

【0004】また、D-システノール酸は、血栓防止効果のある含硫アミノ酸であることから、医薬品の原料として期待されている。血栓症の治療剤および予防剤としては、イワシから抽出したD-システノール酸の血栓症

の治療剤および予防剤に関する特許が出願されている（特願昭61-47880）。さらに、血中コレステロールを低下させるための適用を目的として、システノール酸またはその胆汁酸抱合体を含有するコレステロール

低下剤について特許が出願されている(特願平3-49113等)。

【0005】また、D-システノール酸は、1957年にB. Wickbergが紅藻より分離、同定して以来、1963年に広島大の伊藤によって、海藻中の緑藻や褐藻に存在することが明らかにされた。その後、北海道大の米田によって1965年にイトマキヒトデ由来のD-システノール酸が分離された。さらに1979年に北海道大の米田によってD-システノール酸を誘導体化することでタウリンとの分離がなされた。

【0006】上記の従来方法については、次のような問題点があった。

【0007】(1) これまでイワシを原料としてD-システノール酸の精製が行われてきたが、その含有量はごく微量であるため、イワシ100kgから12gが最大レベルの回収であり、実状ではトンオーダーのイワシから数十グラムが回収されていた。その収率は最大約0.01%であり、回収率は低く、しかも抽出に大量の新鮮なイワシが必要となるため、天然素材から産業規模レベルでD-システノール酸を生産することは非常に困難となっていた。

【0008】(2) また、上述のように海藻の中にD-システノール酸が存在することは明らかになっていたが、D-システノール酸の原料である海藻を培養することによって通年生産することは、培養過程で海藻が成熟したり、海藻の形が崩壊するため困難であった。しかも、存在量についての知見は殆どないことから、海藻からの積極的なD-システノール酸の生産には到っていないのが現況である。

【0009】

【発明が解決しようとする課題】上記問題点に鑑み、本発明の目的は、D-システノール酸を大量に効率的に供給する方法、およびそのための装置を提供することにある。

【0010】

【課題を解決するための手段】上記目的を達成するため、以下に示す手段を採用する。

【0011】(1) 上部を開口した第一の培養槽内で、前記培養槽内に窒素、リンを含有する海水を供給し、且つ前記培養槽内に炭酸ガスをバブリングしながら、D-システノール酸を含有するアオサを培養する工程と、前記アオサからD-システノール酸を有機溶媒または熱水で抽出する工程とを具備するD-システノール酸の製造方法。

【0012】(2) (1) 記載の培養工程で培養した後、前記アオサを回収する工程と、回収した前記アオサにイオウ化合物および/または過酸化物を添加しながら、第二の培養槽内で培養することにより、前記アオサ中のD-システノール酸含量を増大させるように培養する工程と、前記アオサからD-システノール酸を有機溶

媒または熱水で抽出する工程とを具備するD-システノール酸の製造方法。

【0013】(3) (1) または(2) 記載の培養方法で生産した前記アオサを回収した後、遮光した環境下で前記アオサを乾燥する工程と、前記アオサからD-システノール酸を有機溶媒または熱水で抽出する工程とを具備するD-システノール酸の製造方法。

【0014】(4) (1) ないし(3) の何れか1 記載の製造方法により得られたD-システノール酸を、更にイオン交換樹脂による精製、およびエタノールまたはメタノール共存下で結晶化する工程を具備するD-システノール酸の製造方法。

【0015】(5) (1) ないし(4) の何れか1 記載の製造方法であって、前記アオサが、不稔性アオサであるD-システノール酸の製造方法。

【0016】(6) D-システノール酸を含有するアオサを培養するための第一の培養装置であって、上部を開口した第一の培養槽と、前記培養槽内に窒素、リンを含有する海水を供給するための供給手段および攪拌手段と、前記培養槽内に炭酸ガスをバブリングするための通気手段とを具備する第一の培養装置と；前記第一の培養装置で培養した後、回収した前記アオサを培養する第二の培養装置であって、有孔壁を有しない第二の培養槽と、イオウ化合物および/または過酸化物を添加するための添加手段とを具備する第二の培養装置と；前記第一の培養装置または第二の培養装置で生産した前記アオサを回収した後、前記アオサを乾燥させる乾燥装置であって、直射日光を防御する構造を有し、通気のための開閉部を有する乾燥室と、加熱・除湿手段とを具備する乾燥装置と；前記第一の培養装置、前記第二の培養装置または前記乾燥装置のいずれか1 記載の装置で処理された前記アオサからD-システノール酸を抽出するための装置であって、有機溶媒または熱水と攪拌する手段を具備する抽出装置とを具備したことを特徴とするD-システノール酸の製造装置。

【0017】(7) (6) 記載の製造装置であって、更に、前記抽出装置で得られた抽出液からD-システノール酸を精製するためのイオン交換樹脂による精製手段と、エタノールまたはメタノール共存下での結晶化手段とを具備したことを特徴とするD-システノール酸の製造装置。

【0018】

【発明の実施の形態】本発明者は、D-システノール酸を多く含む素材について海藻を中心に鋭意、分析評価し、検討したところ、以下のことを見出した。

【0019】(1) 海藻中の緑藻 アオサ(Ulva 属)にD-システノール酸が存在することを確認し、特に、この中で通年培養生産可能な不稔性アオサ(Ulva lactuca)の中の限られた個体に、D-システノール酸が乾燥重量当たり0.1~0.6%と多量に含有することを見出した。

【0020】(2)また、それに加え、選抜した不稔性アオサを培養する過程で、D-システノール酸の構成成分であるイオウ化合物と共に過酸化水素等の過酸化物を添加することによって、D-システノール酸の含有率が向上することを見出した。

【0021】(3)また、不稔性アオサからD-システノール酸を抽出する工程において、D-システノール酸の分解・損失を伴わない、アオサの遮光下での乾燥条件を見出した。

【0022】これら(1)、(2)および(3)を見出すことによって本発明に至った。即ち、本発明は簡便に、しかも効率良くD-システノール酸を生産する方法を提供することにある。しかも、不稔性アオサと称する変異種は従来のものに比べ、特定の季節に成熟、世代交代することなく、周年の培養生産が可能のため、この不稔性アオサを原料としたD-システノール酸の大量生産が期待できる。

【0023】本発明のD-システノール酸の生産に使用することができる不稔性アオサの特性を以下に示す。

【0024】この不稔性アオサは横浜市海岸から採取したものである。本発明者はこの株を不稔性アオサMHI-ATRC-1株と命名し、工業技術院生命工学工業技術研究所に寄託申請したが、「緑藻であるため」との理由から受託を拒否された。

【0025】形状：布状で浮遊性

大きさ：1センチ大四方から100センチ四方面度まで増殖可能

運動性：無し

窒素源：アンモニア態窒素、尿素態窒素、硝酸態窒素の各種で増殖可能で、D-システノール酸含量向上には硝酸態窒素が好ましい。

光合成色素：クロロフィルa、クロロフィルb、カロチノイド(薄層クロマトグラフィーにより検出)

増殖性：1.5ppm窒素の存在下、25℃で、0.1%CO₂を含むエアレーションでのソーラーシュミレーターを用いた培養(12h明/12h暗)において、約0.3g(乾燥重量/リットル・日)の増殖速度を示す。

【0026】以下、D-システノール酸を含有するアオサからD-システノール酸を製造する方法を、使用した装置とともに説明する。本発明のD-システノール酸の製造方法および装置は、D-システノール酸を含有する海藻全てに使用可能であるが、生産効率の点で、不稔性アオサを用いることが好ましく、上記不稔性アオサMHI-ATRC-1株を使用することがより好ましい。

【0027】まず、D-システノール酸を含有するアオサを、D-システノール酸の大量生産を目的として、上部を開口した培養槽内において第一の培養を行う。第一の培養は、好ましくは7日～14日行う。

【0028】第一の培養で使用する培養槽は、それ自体、該培養槽内に窒素、リンを含有する海水を供給でき

る構造であってもよいし、該海水の供給手段を更に具備していてもよい。

【0029】前記培養槽がそれ自体で該海水を供給できる構造としては、例えば、該培養槽を該海水上に浮遊させた生け簀のような構造であり、且つ該培養槽が、該海水の供給手段として有孔壁を有するものが挙げられる。該有孔壁により、培養槽外の該海水と培養槽内の培養液との交換が可能となる。

【0030】また、該海水の供給手段を更に具備している構造とは、該培養槽が有孔壁を有していない場合に、別途、該海水を供給するための手段を具備するものである。この場合、窒素、リンを含有する海水を、培養槽内に送液する供給手段を用いて補給・交換することにより、アオサの栄養源は確保される。海水の交換は、海水中の溶存態窒素が約1ppmである場合、約2～5L/海水容量L・hrの流速で行うことができる。

【0031】本発明において窒素、リンを含有する海水は、富栄養化海水または窒素、リンを添加した海水の何れも使用することができる。

【0032】前記培養槽は、更に培養槽内の培養液を攪拌する手段と、培養槽内に炭酸ガスをバブリングする通気手段とを具備する。攪拌手段とは、培養槽外の海水と培養槽内の培養液とが均一な状態になるように攪拌できるものであれば特に限定されない。その一例として、例えばジェットストリーマーが利用できる。また、炭酸ガスのバブリングは、空気に0.1(v/v)%CO₂を添加したガスを、約3～8L/海水容量L・hrの速度で供給することにより行うことができる。前記攪拌手段および通気手段により、培養槽外の海水から、アオサの栄養源である窒素、リン、並びに炭酸ガスが効率よく補填される。

【0033】このように、海水中の成分を栄養源として大量に培養されたアオサは、例えば網状またはザル状の籠を用いて、海水から回収された後、好ましくは、D-システノール酸含量を向上させるための第二の培養工程に移される。回収工程は、海水からアオサ個体を単離できれば特に限定されない。

【0034】第二の培養工程においては、アオサ中のD-システノール酸含量を増大させることを目的として、アオサは、D-システノール酸の原料となるイオウ化合物および/または過酸化物を共に培養される。第二の培養は、好ましくは1日～3日行う。

【0035】第二の培養で使用する培養槽は、有孔壁を有しておらず、即ち培養槽外とは完全に仕切りを有するものであれば何れも使用することができる。これにより、添加するイオウ化合物および/または過酸化物の培養槽外への拡散を防止し、前記物質を培養槽内に高濃度に維持することができる。

【0036】前記培養槽は、更に、イオウ化合物および/または過酸化物を添加する手段を具備する。添加手段は、イオウ化合物および/または過酸化物を所望の濃度

で、該培養槽に添加できるものであれば特に限定されない。例えば、添加する殆どの物質は、水溶液状態や粒状の固体として投入し、溶解することができる。また、一部の過酸化物はガス状物質としてバブリングにより溶解させ、投入することができる。

【0037】イオウ化合物としては硫酸塩が望ましく、例えば硫酸マグネシウム、硫酸カリウム、硫酸アンモニウム等が挙げられ、添加する硫酸イオン濃度は、海水中の1.1~1.5倍が望ましい。過酸化物としては過酸化水素やオゾン等が挙げられ、その注入時の濃度は、過酸化水素で0.2~10ppm、オゾンで0.01~0.1ppmが望ましい。

【0038】第一または第二の培養工程を終えたアオサは、次の乾燥工程に先だって洗浄される。

【0039】洗浄後、アオサにより生産されたD-システノール酸の分解を防ぐことを目的として、アオサを遮光した環境下で乾燥させるのが好ましい。遮光した環境下とは、直射日光を遮断できる環境であれば特に限定されず、室内でも直射日光を遮る開放空間でも良い。乾燥工程は、およそ24時間~72時間で完了する。

【0040】使用する乾燥装置は、直射日光を防御する構造を有し、且つ通気のための開閉部を有する乾燥室と、加熱・除湿手段とを具備する。通気のための開閉部は、開閉部を開けて通気を促すことができるものであれば特に限定されないが、例えば乾燥装置の側面部に位置させることができる。また、扇風機を用いて乾燥を促進させることもできる。加温の温度は、D-システノール酸の分解を防ぐため、70℃以下にし、40~60℃に制御することが好ましい。加温と同時に、乾燥効率を高めるため除湿してもよい。

【0041】乾燥装置の直射日光を遮断した構造により、D-システノール酸の分解を抑制しつつ、更に通気を促す構造および加熱・除湿手段により効率よくアオサを乾燥させることができる。

【0042】次いで、第一または第二の培養工程を終えたアオサ、あるいは乾燥後のアオサからD-システノール酸を抽出する工程は、アオサを有機溶媒または熱水中で攪拌することより行う。抽出は、約1時間~2時間で完了する。このとき抽出効率を高めるため、アオサを数ミリ大に粉碎しておくことが好ましい。熱水は、D-システノール酸の分解を防ぐため、50~70℃のものを使用し、有機溶媒としては、同じく50~70℃の60~75(v/v)%エタノールまたはメタノール溶液を使用することができる。

【0043】上記抽出後、ジエチルエーテルで脱色後、活性炭を加えて色素を吸着させ、次いで濾過により透明な溶液を得ることができる。この溶液を濃縮することにより、D-システノール酸は部分精製される。

【0044】更に純度の高いD-システノール酸を得るためには、上述の操作に加えて、イオン交換樹脂による精製、その後70~80(v/v)%エタノールまたはメタノール

ル共存下で結晶化させる操作を行うのが好ましい。イオン交換樹脂による精製において、強酸性陽イオン交換体および弱塩基性陰イオン交換体を使用することができる。結晶化の工程は、75(v/v)%エタノールまたはメタノール中で氷温にて保存することによりD-システノール酸の結晶を得ることができる。

【0045】以上の工程により、アオサ中のD-システノール酸の含量を増大させ、次いでその抽出効率を高めることにより、最終的にD-システノール酸の収率向上を可能にする。

【0046】上記不稔性アオサMHI-ATRC-1株を使用した本発明によるD-システノール酸製造プロセスの一例を図1に示す。

【0047】アオサ培養生産手段1は、上部が開口した培養部を海上に浮遊させた生け簀の様な構造であり、培養部の底は有孔壁とする。培養部は、培養部の海水を攪拌する手段と培養部底の有孔壁の直下付近に通気手段とを具備する。前記攪拌手段および通気手段は、培養部内外の海水交換を促進することによって海水中の窒素、リンをアオサの栄養源として、有効に利用できるようにするものである。培養部の底をなす有孔隔壁とほぼ同じ水位または直下部に設置された通気ラインは、多数の吐出孔を有し、培養槽内の海水を緩やかに攪拌し、アオサの栄養源である炭酸ガスを補填するとともに、培養部内の海水と外部の栄養源に富む海水との交換を促進する作用を有する。通気手段には、電動式、又は内燃エンジン式のコンプレッサー等を用いることが出来る。内燃エンジンにおいては、排気ガス中の炭酸ガスの一部または全部を通気ラインに供給し、通気ラインの炭酸ガス濃度を高めることにより、アオサ増殖の促進作用を持たせることが出来る。また、他の炭酸ガス発生源より炭酸ガスを引き込み、利用することも出来る。

【0048】アオサ回収手段2は、成長したアオサを回収するものである。その回収手法としては、アオサを含む海水をくみ上げアオサが漏洩しない程度の適当な孔径を有する網状の籠で海水とアオサを分離したり、アオサをザル状の籠ですくい上げたりして収穫するもので、アオサの大きさに応じて回収手法を選択することができる。

【0049】D-システノール酸含量向上手段3は、海上の海水とは完全に仕切りを有する独立したアオサ培養槽からなるものであり、アオサ培養生産手段1で生産したアオサを前記回収手段2で該手段3に移し、アオサを高密度で以下の添加物と共存させて培養するものである。D-システノール酸の含量を向上させるために添加する化合物としては、例えば過酸化物としては過酸化水素やオゾン等が挙げられ、その注入時の濃度は、過酸化水素で0.2~10ppm、オゾンで0.01~0.1ppmが望ましい。また添加するイオウ化合物としては硫酸塩が望ましく、例えば硫酸マグネシウム、硫酸カリウム、硫酸アンモニ

ウム等が挙げられ、添加する硫酸イオン濃度は、海水中の1.1~1.5倍が望ましい。これらの過酸化合物とイオウ化合物の添加によりD-システノール酸の含有量を増加させると共に、他の培養槽とは仕切りをなす独立した構造から、それらの使用量を低減させることができる。

【0050】アオサ洗浄手段4は、陸上に設置されたもので、真水による洗浄にて海水から回収したアオサの塩分を除去するものであり、後の工程の器具類の錆を防ぎ、且つ抽出効率を高める働きを有する。

【0051】アオサ乾燥手段5は、アオサを保存する目的およびアオサに含有されるD-システノール酸の分解を防ぐ目的で設置されるもので、加熱・除湿器を設け、アオサの乾燥を促進することができる。加熱温度は40~60℃が望ましく、より高温ではD-システノール酸の分解を起こすので、70℃以下に制御するものである。また、その構造部の側面の位置に開閉部が設置され、晴天時は開閉部を開け、通気を促し、アオサの乾燥を助長することができる。但し、直射日光が入らない構造を有し、直射日光によるD-システノール酸の分解を抑制するものである。また、アオサ乾燥後の試料を裁断、成形し、家畜の飼料や健康食品として利用することもできる。

【0052】D-システノール酸抽出手段6は、数ミリ大に粉碎したアオサを50~70℃の熱水、または50~70℃の60~75(v/v)%エタノール溶液、もしくは同メタノール溶液と共に1時間攪拌し、この操作によってアオサから溶液中にD-システノール酸を抽出させるものである。次に、ジエチルエーテルで脱色後、水層に活性炭を入れ、ろ過することで、透明液を得る。こうして得られた上清中にD-システノール酸は含まれ、これを減圧乾燥するだけでも部分的に精製したD-システノール酸を回収できる。この状態で、混在するペプチドや一部の色素以外のは大半のものは分離できる。さらに高純度のD-システノール酸が必要な場合は、強酸性陽イオン交換体と弱塩基性陰イオン交換体を用いて精製した後、75(v/v)%エタノールまたはメタノール中で水温にて保存すると、D-システノール酸の結晶を得ることができる。このように上記1~6の手段により培養生産した不稔性アオサからD-システノール酸を精製し、分取することができる。

【0053】

【実施例】以下実施例により本発明の方法を更に具体的に説明する。

【0054】(実施例I)海洋でのアオサ生産を陸上で再現するため、横浜市金沢区八景島付近から入手した溶存態窒素濃度が約1ppmの海水を用いて、アオサMHI-ATRC株をソーラーシミュレーター(キセノンランプを光源とするワコム社製)にて培養した。なお、培養は以下の操作で行った。

【0055】空気に0.1(v/v)%CO₂を添加したガス

を、培養槽(受光面積200cm²×深さ5cm)に0.15L/海水容量L・分の速度で供給し、海水はアオサへの溶存態窒素を供給するため2L/hrの流速で入れ替えた。また、アオサはリーフパンチで直径0.6cmの大きさに調製後、このアオサ3,000個体を培養槽に添加し、4日間の予備培養後、10日間培養した。この培養によって増殖速度を求めた結果、15g(乾燥重量)/m²・日で増殖することが確認された。一方、この藻体を回収し、窒素およびリンの含有量を測定したところ、それぞれ乾燥重量当たり3%と0.2%を示し、海水から窒素とリンを吸収することが判明した。

【0056】次に、培養10日目以降の増殖したアオサに、イオウ成分としてSO₄²⁻を終濃度0.34g/L(MgSO₄・7H₂Oを添加)で添加すると共に終濃度1mg/L(1ppm)の過酸化水素を添加し、2日間培養した。その結果図2に示したように、培養に海水だけを利用したもの(無添加)や、夫々単独で添加したものに比べて、両物質を添加した場合、D-システノール酸含量は最も増大し、約3割増加することが判明した。

【0057】また、アオサの乾燥工程において、直射日光で乾燥したアオサと直射日光を遮断した室内で風乾したアオサについてD-システノール酸の含量を測定した。その結果、図3に示したように、直射日光を遮断して室内で風乾させることによって、D-システノール酸の太陽光による分解を抑制することができ、D-システノール酸の含量損失の3割が改善可能となった。

【0058】(実施例2)次に、上記のような培養により得られたアオサを純水で洗浄した後、脱水機にかけ、脱水した後、新聞紙上に広げ、直射日光の当たらない室内で扇風機にて乾燥させた。こうして乾燥重量として20gのアオサを得た。

【0059】このアオサを数mm大に粉碎後、60(v/v)%エタノール水溶液に浸し、70℃にて1時間攪拌した。この液を約半分の体積になるように減圧濃縮した後、ジエチルエーテルで脱脂・脱色し、半透明な水溶液を得た。次にこの溶液1Lに対し約20g顆粒状の活性炭を入れ、余分な色素を吸着させた後、活性炭をブフナーロートでろ過して透明な水溶液を得た。

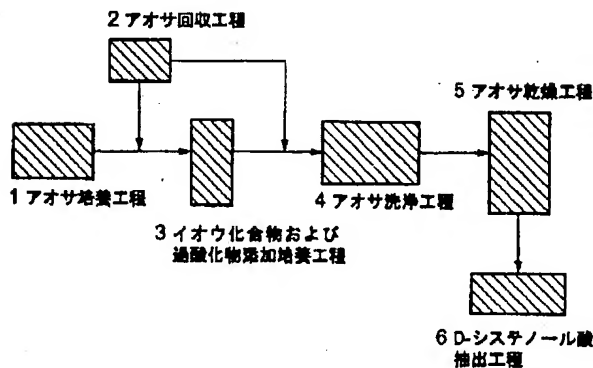
【0060】このろ液をエバポレーターで濃縮し、強酸性陽イオン交換体Dowex 50W×8(H⁺型)にアプライし、素通り部分を得た。この画分を濃縮し、弱塩基性陰イオン交換体Dowex 2×8(OH⁻型)にアプライし、素通りさせた後、5%酢酸にて溶出した画分を得た。次に、この画分を濃縮し、さらに弱塩基性陰イオン交換体Dowex 2×8(OH⁻型)を用い、同様に5%酢酸にて溶出した画分を得た。こうして得られた画分の余剰な酢酸をエバポレーターで除去後、シロップ状の液を水に溶解させた後、終濃度75(v/v)%のエタノールを加え、冷却下で保存・静置することで白色針状の結晶D-システノール酸を得た。

【0061】得られたD-システノール酸は80mgであり、原料であるアオサからの収率は0.4%であった。また、このようにして得られたD-システノール酸の性状は以下のとおりであった。水に易溶、エタノールに不溶。元素分析の結果C:23.22, H:5.85, N:9.03で、LC-MASS分析から、図4に示すように亜硫酸基(分子量80)を含む、脱プロトン化された分子量154のピークが観察された。このことから、分子量155のD-システノール酸であることが確認された。

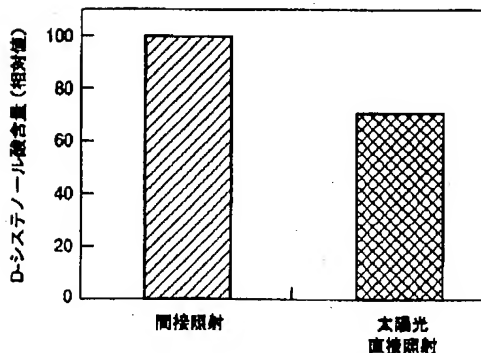
【0062】

【発明の効果】本発明によれば、海水中の窒素やリン等を栄養源に海洋上で不稔性アオサを培養することによりD-システノール酸を生産することができる。また、不稔性アオサは通年生産可能で、しかも、乾燥状態で保存性もよいことから、このアオサを原料に希望する純度のD-システノール酸を季節に左右されることなく安定に供給することができる。また、不稔性アオサはイワシに比べD-システノール酸の含量が一桁多いため、本発明により従来比40倍の高い効率で、かつ経済的にD-シ

【図1】



【図3】



テノール酸を生産することができる。一方、このシステムにおけるアオサ培養によって海域の窒素、リンが固定できることから、海水の浄化が可能となるなど海域環境浄化の副次的効果も提供できる。

【図面の簡単な説明】

【図1】 D-システノール酸製造プロセスを示す図。

【図2】 硫酸イオンおよび過酸化水素添加によるD-システノール酸含有率向上を示す図。

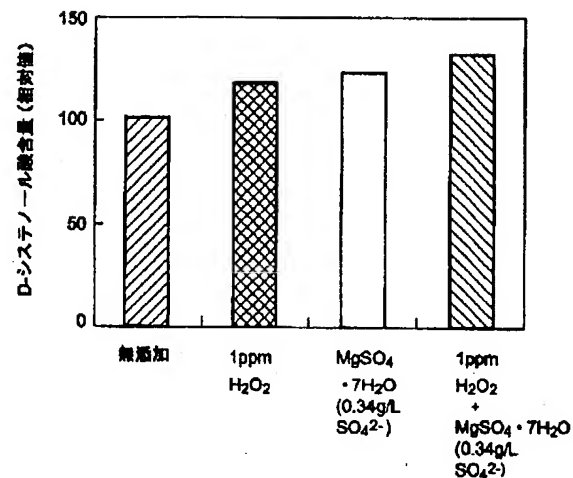
【図3】 間接照射の乾燥によるD-システノール含有率向上を示す図。

【図4】 マススペクトルによるD-システノール酸の同定を示す図。

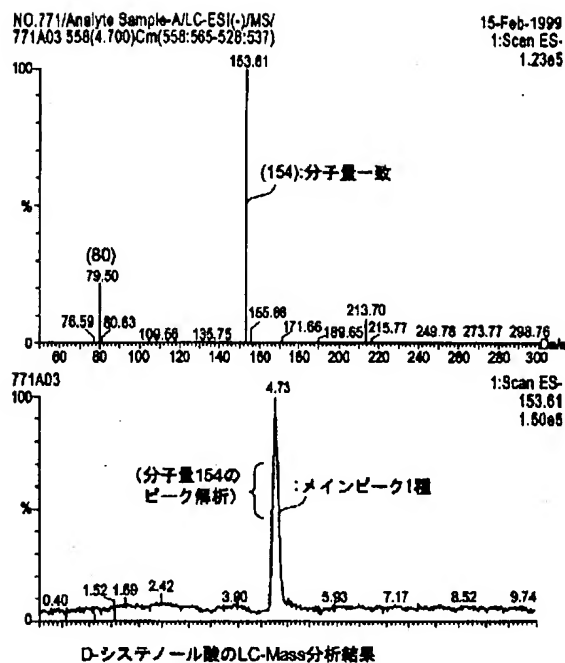
【符号の説明】

- 1…アオサ培養工程
- 2…アオサ回収工程
- 3…イオウ化合物および過酸化水素添加培養工程
- 4…アオサ洗浄工程
- 5…アオサ乾燥工程
- 6…D-システノール酸抽出工程

【図2】



【図 4】



フロントページの続き

(51) Int. Cl.⁷
(C 1 2 P 13/00
C 1 2 R 1:89)

識別記号

F I

テ-マ-コード (参考)

F タ-ム (参考) 2B026 AA05 AB08 AC01 AF04
4B064 AE61 BA02 CA08 CC03 CD11
CE08 CE11 CE15 CE16 DA01
DA16
4B065 AA83X BB11 BB12 BD16
CA16 CA44
4C206 AA04 JA08 KA18 ZA54